



**PENGARUH PEMBERIAN MINYAK *Pandanus conoideus*  
( BUAH MERAH ) TERHADAP SEBUKAN SEL MONONUKLEAR DI  
SEKITAR JARINGAN ADENOKARSINOMA MAMMAE MENCIT C3H**

**ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH**

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh  
Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran

Oleh :

**INGGRIANI**

**G2A003096**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG**

**2007**

**HALAMAN PENGESAHAN**  
**ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH**

**PENGARUH PEMBERIAN MINYAK *Pandanus conoideus***  
**( BUAH MERAH ) TERHADAP SEBUKAN SEL MONONUKLEAR DI**  
**SEKITAR JARINGAN ADENOKARSINOMA MAMMAE MENCIT C3H**

Telah diuji dan dipertahankan di hadapan Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro pada tanggal 23 Juli 2007 dan telah diperbaiki sesuai saran – saran yang diberikan.

Semarang, 25 Juli 2007

Ketua Penguji

Penguji

dr. Tri Indah Winarni, M.Si Med  
NIP 132163892

dr. Achmad Zulfa Juniarto, M.Si Med SpAnd  
NIP 132163896

Pembimbing

dr. Ratna Damma Purnawati, M.Kes  
NIP 131916037

***The Effect of Pandanus conoideus Oil (Red Fruit) to Mononuclear Cells Proliferation Around Adenocarcinoma Mammae's Tissue in C3H Mice***

*Inggriani\*, Ratna Damma Purnawati\*\**

***Abstract***

***Backgrounds:*** Adenocarcinoma mammae is the second causa of Indonesian cancer women death. In 1995, I Made Budi introduced red fruit. Red fruit has high levels of beta carotene and tocopherol that can increase IL-2 levels. IL-2 acts in immunity of tumors by increasing the NK cells activity. Mononuclear cells proliferation around adenocarcinoma mammae showed the imun activity to the cancer cells.

***Objectives:*** To prove the effect of Pandanus conoideus oil increasing mononuclear cells proliferation around adenocarcinoma mammae's tissue in C3H mice.

***Methods:*** Experimental study with post test only control group design. Samples were 15 C3H mices and divided into 3 groups. Group K: were inoculated with cancer cells, got standard diet, and were given with 0,2 cc aquadest per day orally for 3 weeks. P1: were inoculated with cancer cells and then after tumors appeared, administrated with 0,2 cc Pandanus conoideus oil per day orally for 3 weeks. P2: were inoculated with cancer cells and then after tumors appeared for 3 weeks, administrated with 0,2 cc Pandanus conoideus oil per day orally for 3 weeks.

***Result:*** The highest mean of mononuclear cells proliferation's score was 2,48 (0,50) on P1; 2,40 (0,24) on P2; and the lowest was 0,84 (0,33) on group K. There was a significant difference in mononuclear cells proliferation's score between all groups ( $p=0,007$ ). Mean of mononuclear cells proliferation's score was significant between group K and P1 ( $p=0,008$ ) and between group K and P2 ( $p=0,008$ ). There was no significant difference between group P1 and P2 ( $p=0,337$ ).

***Conclusions:*** Pandanus conoideus oil has effect in increasing the mononuclear cells proliferation around adenocarsinoma mammae's tissue in C3H mice.

***Keywords:*** Pandanus conoideus, mononuclear cells proliferation, adenocarcinoma mammae.

\* Student of Medical Faculty Diponegoro University, Semarang

\*\* Lecturer of Histology Department Medical Faculty Diponegoro University, Semarang

# **Pengaruh Pemberian Minyak *Pandanus conoideus* (Buah Merah) Terhadap Sebukan Sel Mononuklear di Sekitar Jaringan Adenokarsinoma Mammae Mencit C3H**

Inggriani\*, Ratna Damma Purnawati\*\*

## **Abstrak**

**Latar Belakang:** Karsinoma mammae menempati urutan kedua penyebab kematian akibat keganasan pada wanita Indonesia. Tahun 1995, I Made Budi memperkenalkan buah merah. Buah merah mengandung beta karoten dan tokoferol dengan kadar tinggi yang dapat meningkatkan kadar IL-2. IL-2 berperan dalam imunitas terhadap kanker yaitu meningkatkan aktivitas sel NK. Adanya sebukan sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mammae menunjukkan aktivitas sistem imun terhadap kanker.

**Tujuan:** Membuktikan pengaruh minyak *Pandanus conoideus* dalam meningkatkan jumlah sebukan sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mammae mencit *C3H*.

**Metoda:** Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan pendekatan *post test only control group design*. Sampel penelitian 15 ekor mencit strain *C3H*. Dibagi random menjadi 3 kelompok perlakuan. Kelompok K: diinokulasi sel kanker dan mendapat diet standar dan diberi aquadest 0,2 cc/hari. P1: diinokulasi sel kanker, setelah timbul benjolan diberi minyak *Pandanus conoideus* 0,2 cc/hari. P2: diinokulasi sel kanker, setelah timbul benjolan selama 3 minggu diberi minyak *Pandanus conoideus* 0,2 cc/hari. Aquadest dan minyak *Pandanus conoideus* diberikan per oral dengan sonde lambung selama 3 minggu.

**Hasil:** Rerata jumlah sebukan sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mammae mencit *C3H* tertinggi 2,48 (0,50) pada kelompok P1; 2,40 (0,24) pada kelompok P2; terendah 0,84 (0,33) pada kelompok K. Perbedaan skor jumlah sebukan sel mononuklear antar kelompok bermakna ( $p=0,007$ ). Rerata jumlah sebukan sel mononuklear berbeda bermakna antara kelompok K dengan P1 ( $p=0,008$ ) dan antara kelompok K dengan P2 ( $p=0,008$ ). Antara P1 dengan P2 tidak didapatkan perbedaan yang bermakna ( $p=0,337$ ).

**Kesimpulan:** Pemberian minyak *Pandanus conoideus* berpengaruh meningkatkan jumlah sebukan sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mammae mencit *C3H* secara bermakna.

Kata Kunci: *Pandanus conoideus*, sebukan sel mononuklear, adenokarsinoma mammae.

\* Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

\*\* Staf Pengajar Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

## PENDAHULUAN

Saat ini karsinoma mammae menempati urutan kedua penyebab kematian akibat keganasan pada wanita Indonesia.<sup>1,2</sup> Karsinoma mammae dapat menyerang semua golongan usia tetapi insidens tertinggi didapatkan pada wanita *menopause* dan *post menopause*.<sup>3</sup> Penyebab terjadinya karsinoma mammae bermacam – macam diantaranya karsinogen kimia, virus onkogenik, radiasi, gaya dan lingkungan hidup, pengaruh genetik, dan ketidakseimbangan hormonal.<sup>3,4,5</sup>

Terapi untuk karsinoma mammae yang ada saat ini antara lain terapi bedah berupa mastektomi radikal dan lumpektomi, radiasi dan kemoterapi, antibodi monoklonal serta terapi hormonal berupa anti estrogen.<sup>6,7,8,9</sup> Karena terapi – terapi tersebut dirasa kurang memuaskan bagi sebagian penderita, banyak penderita karsinoma mammae yang mencoba pengobatan alternatif diantaranya meminum ramuan tradisional. Salah satu obat tradisional yang dipercaya dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit termasuk kanker payudara adalah kuansu atau yang lebih dikenal dengan sebutan buah merah ( *Pandanus conoideus* ).<sup>10,11</sup>

Sejak dipublikasikan oleh I Made Budi pada tahun 1995, kandungan buah merah mulai diteliti. Ternyata buah merah mengandung beta karoten dan tokoferol dalam kadar yang tinggi.<sup>10,11,12</sup> Menurut Henny, buah merah berperan sebagai antiproliferasi sel tumor dan dapat meningkatkan mekanisme apoptosis sel tumor.<sup>13</sup> Kandungan beta karoten dan tokoferol yang tinggi pada buah merah terbukti dapat meningkatkan kadar IL-2. IL-2 dapat meningkatkan aktivitas

sitotoksik sel NK dan proliferasi sel T yang nantinya terlibat dalam jalur imunitas terhadap tumor.<sup>14,15</sup> Selain itu beta karoten dan tokoferol berperan sebagai anti oksidan yang mampu bekerja menetralkan zat – zat radikal bebas pemicu terjadinya kanker juga meningkatkan kekebalan tubuh.<sup>9,10,11,12</sup>

Adanya respon imun tubuh terhadap sel tumor dibuktikan oleh penelitian histologik yang memperlihatkan adanya: infiltrasi sel mononuklear, sel limfosit, sel NK dan makrofag disekitar sel tumor, tumor dapat mengalami regresi spontan, tumor lebih sering berkembang pada tubuh dengan kondisi imunodefisiensi atau bila fungsi sistem imun tidak efektif. Keberadaan sekumpulan sel mononuklear di sekitar sel kanker secara histologik mempunyai nilai prognostik yang baik karena kecepatan pertumbuhan sel kanker akan menurun. Secara in vitro, beberapa sel imun di sekitar sel kanker terbukti dapat membunuh sel kanker tersebut.<sup>14,16,17</sup>

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah : apakah minyak *Pandanus conoideus* dapat berpengaruh terhadap peningkatan jumlah sekumpulan sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mammae ?

Sedangkan tujuan dari penelitian ini adalah membuktikan pengaruh minyak *Pandanus conoideus* dalam meningkatkan jumlah sekumpulan sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mammae.

Diharapkan hasil penelitian ini nantinya dapat memberi tambahan informasi mengenai pengaruh minyak buah merah sebagai terapi alternatif kanker payudara juga dapat digunakan sebagai pertimbangan untuk penelitian yang lebih lanjut.

## METODE PENELITIAN

Ruang lingkup penelitian ini mencakup bidang ilmu histologi, imunologi, dan patologi anatomi. Penelitian ini dilakukan di laboratorium histologi fakultas kedokteran Universitas Diponegoro selama 4 bulan. Adapun jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental dengan pendekatan *post test only control group design* yang menggunakan binatang coba sebagai objek penelitian.

Sampel yang digunakan adalah mencit strain *C3H* usia 10-12 minggu, sehat, dan tidak tampak gejala abnormalitas. Sampel diperoleh dari laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Sebelum mendapat perlakuan semua mencit diadaptasikan dan diberi pakan standar selama 1 minggu.

Sampel sebanyak 15 ekor mencit secara random dibagi menjadi 3 kelompok coba, masing – masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit.<sup>18</sup> Setiap kelompok dikandangkan secara individual dan mendapatkan pakan standar dan minum yang sama secara *ad libitum*. Kemudian ketiga kelompok mencit diinokulasi sel kanker. Kelompok pertama (kelompok kontrol): mencit diberi diet standar dan aquades 0,2 cc per oral dengan sonde lambung setiap hari selama 3 minggu. Kelompok kedua (kelompok perlakuan 1 / P1): mencit diberi diet standar dan setelah timbul benjolan diberi minyak *Pandanus conoideus* 0,2 cc per oral dengan sonde lambung setiap hari selama 3 minggu. Kelompok ketiga (kelompok perlakuan 2 / P2): mencit diberi diet standar dan setelah timbul benjolan selama 3 minggu ( stadium kanker yang berbeda dengan P1 ) diberi minyak *Pandanus conoideus* 0,2 cc per oral dengan sonde lambung setiap hari selama 3 minggu.

Setelah perlakuan berakhir semua mencit diterminasi dengan cara dislokasi tulang leher. Kemudian jaringan adenokarsinoma mammae setiap mencit diambil dan difiksasi dalam buffer formalin 10%. Setelah difiksasi tumor dimasukkan ke dalam alkohol, xylol alkohol, xylol, xylol parafin dan parafin secara berturut – turut kemudian dicetak blok. Setelah itu blok parafin dipotong dengan ketebalan 4 mikrometer dan ditaruh pada object glass lalu diberi pewarnaan HE. Masing – masing blok dibuat 3 preparat untuk setiap mencit pada setiap kelompok. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan terhadap jumlah sebukan sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mammae mencit *C3H* dengan menggunakan kriteria Sarjadi.<sup>19</sup> Pemeriksaan dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400X. Masing – masing preparat dinilai dalam 5 lapang pandang, yaitu 4 di bagian tepi dan 1 di bagian tengah kemudian diambil reratanya.

**Tabel 1.** Jumlah sebukan sel mononuklear sekitar kelompok sel tumor menurut kriteria Sarjadi <sup>19</sup>

Skor	Sebukan Sel Mononuklear
0	Tidak ada ( 0-5 sel )
1	Sedikit ( sampai dengan $\frac{1}{4}$ LPB )
2	Sedang ( $\frac{1}{4}$ sampai dengan $\frac{1}{2}$ LPB )
3	Banyak ( lebih dari $\frac{1}{2}$ LPB )

Data yang dikumpulkan merupakan data primer hasil pengamatan mikroskopis. Data yang diperoleh diolah dengan program komputer SPSS 15.0, kemudian pada variabel tergantung dilakukan uji non parametrik *Kruskall-Wallis* dan *Mann-Whitney-U*.

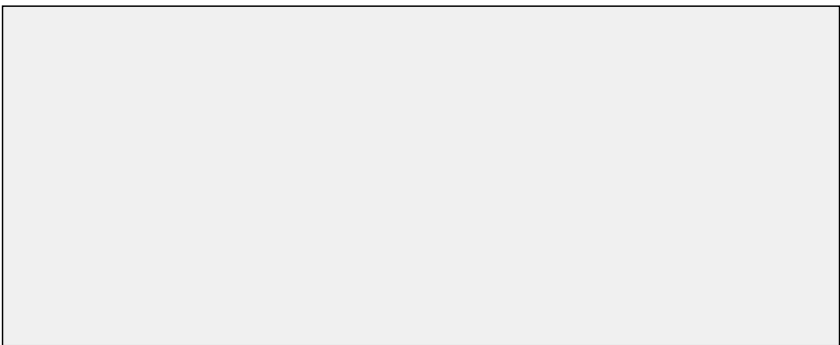


## **HASIL PENELITIAN**

Hasil pemeriksaan sebukan sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mammae mencit *C3H* adalah sebagai berikut :

Sajikan sel menonjol

Kelompok



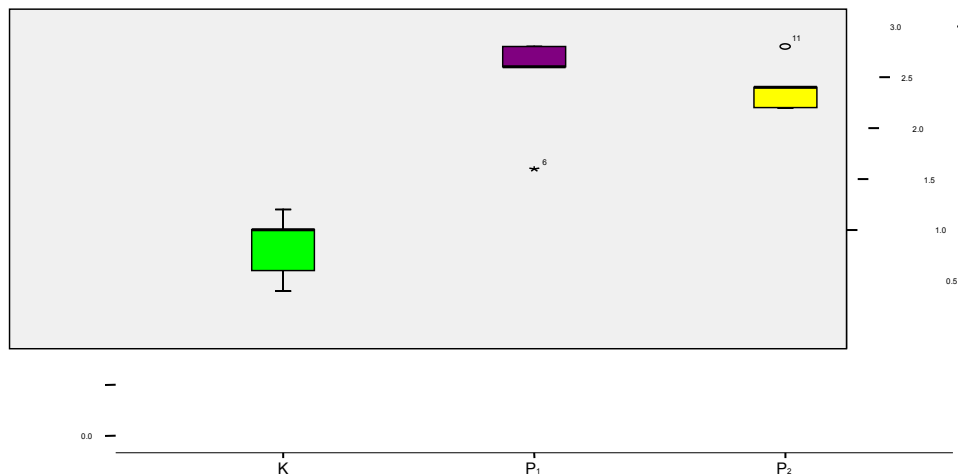
-

-

-

-

-



**Gambar 1.** Diagram box plot jumlah sebukan sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mammae mencit C3H pada kelompok K( ■ ), P1 ( ■ ), P2 ( ■ )

**Tabel 2.** Rerata jumlah sebukan sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mammae mencit *C3H* pada kelompok K (n = 5), P1 (n = 5), dan P2 (n = 5)

Kelompok	Mean	SD	Uji <i>Kruskal-Wallis</i>
K	0,84	0,33	
P1	2,48	0,50	
P2	2,40	0,24	
Total	1,91	0,85	* 0,007

\*  $p < 0,05$

Berdasarkan uji statistik *Kruskal-Wallis*, didapatkan rerata skor sebukan sel mononuklear di sekitar adenokarsinoma mammae mencit *C3H* adalah  $p = 0,007$  yang berarti adanya perbedaan bermakna antar 3 kelompok yang diujikan. Karena didapatkan perbedaan bermakna maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney U* dan didapatkan hasil sebagai berikut:

**Tabel 3.** Hasil uji *Mann-Whitney U* terhadap rerata jumlah sebukan sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mammae mencit *C3H* pada kelompok K, P1 dan P2

Kelompok	K	P1	P2
<b>K</b>	-	* 0,008	* 0,008
<b>P1</b>	* 0,008	-	0,337
<b>P2</b>	* 0,008	0,337	-

\*  $p < 0,05$

Dari hasil uji *Mann-Whitney U* terdapat perbedaan bermakna antara K dengan P1 ( $p=0,008$ ) dan K dengan P2 ( $p=0,008$ ). Tetapi antara P1 dengan P2 tidak didapatkan perbedaan yang bermakna ( $p=0,337$ ).

## PEMBAHASAN

Dari hasil uji statistik diatas didapatkan perbedaan yang bermakna antara jumlah sebukan sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mammae kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Jumlah sebukan sel mononuklear meningkat pada kelompok perlakuan yang diberi minyak *Pandanus conoideus* sebanyak 0,2 cc/hari selama 3 minggu, hal ini menunjukkan bahwa pemberian minyak *Pandanus conoideus* dapat meningkatkan jumlah sebukan sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mammae. Meningkatnya jumlah sebukan sel mononuklear di sekitar jaringan tumor membuktikan adanya aktivitas imun tubuh terhadap sel tumor dan memberikan prognosis yang baik bagi

penderita. Secara in vitro, keberadaan beberapa sel imun di sekitar sel kanker terbukti dapat membunuh sel kanker tersebut.<sup>14,16,17</sup>

Penelitian Henny Pujasari membuktikan bahwa minyak *Pandanus conoideus* dapat meningkatkan aktivitas antiproliferasi dan apoptosis sel tumor kelenjar susu mencit C3H.<sup>13</sup> Beta karoten dan tokoferol yang terkandung dalam buah merah dapat meningkatkan kadar IL-2.<sup>10,11,12</sup> IL-2 merupakan sitokin yang berperan dalam aktivasi sel NK dan sel Tc. Dimana sel NK dan sel Tc akan menghancurkan sel tumor melalui suatu substansi yang disebut perforin.<sup>17,20</sup>

Penelitian yang dilakukan oleh Sumali Wiryowidagdo juga membuktikan bahwa buah merah dapat menghambat pertumbuhan kanker pada mencit *sprague dawley* yang diinduksi tumor paru-paru.<sup>21,22</sup>

Sedangkan jumlah sebukan sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mammae antara kelompok perlakuan 1 dan 2 tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna. Berarti pemberian minyak *Pandanus conoideus* dapat meningkatkan jumlah sebukan sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mammae pada stadium kanker yang berbeda.

## KESIMPULAN

1. Pemberian minyak *Pandanus conoideus* berpengaruh dalam meningkatkan jumlah sebukan sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mammae mencit *C3H*.
2. Pemberian minyak *Pandanus conoideus* dapat meningkatkan jumlah sebukan sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mammae pada stadium kanker yang berbeda.

## **SARAN**

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian minyak *Pandanus conoideus* terhadap aktivitas sel – sel sitotoksik (antara lain perforin).
2. Perlu diadakan penelitian lebih lanjut tentang peran zat aktif dari minyak *Pandanus conoideus* yang berpengaruh terhadap sistem imun baik secara in vivo maupun in vitro dalam jangka waktu pemberian yang lebih lama.
3. Perlu dilakukan uji toksisitas minyak *Pandanus conoideus*.

## **Ucapan Terima Kasih**

Ucapan terima kasih penulis tujukan kepada :

1. dr Ratna Damma Purnawati,M.Kes selaku dosen pembimbing
2. dr Tri Indah Winarni,M.Si Med selaku ketua penguji sidang artikel
3. dr Achmad Zulfa Juniarto,M.Si Med SpAnd selaku penguji artikel penelitian
4. seluruh dosen dan staf bagian Histologi FK UNDIP
5. dr Ika Pawitra Miranti,M.Kes selaku konsultan pembacaan preparat
6. dr Dayat dan staf bagian Patologi Anatomi FK UNDIP yang telah membantu membuat foto preparat
7. Dra. Harnina dan staf bagian biologi UNES yang telah membantu dalam penyediaan mencit
8. dr Puspita Eka Wuyung dan staf bagian Patologi Anatomi FKUI yang telah membantu dalam penyediaan mencit
9. Keluarga ku & atikus

### **Daftar Pustaka**

1. Tjahjono. *Deteksi dini kanker, peran pemeriksaan sitologi dan antisipasi era pasca genom*. Pidato Pengukuhan Guru Besar FK UNDIP. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro, 1998: 23-31.
2. Ramli M. *Deteksi dini kanker payudara dalam perspektif Indonesia*. Farmacia Ethical Digest 2002;2(1): 54-9.
3. Pane M. *Aspek klinis dan epidemiologi penyakit kanker payudara* (serial on line) Agustus 2002 (cited Jan 20<sup>th</sup> 2005). Available from URL: HYPERLINK <http://www.tempo.co.id/medika/arsip/082002/pus-3.htm> .
4. Robbins SL, Kumar V. *Buku ajar patologi 1*, ed 4. Jakarta: EGC, 1995.
5. Prihartono J, Ohno Y, Budiningsih S, Dillon DS, Tjahjadi G, Soetrisno E, et al. *Risk factors in the development of breast cancer among indonesian women*. Med J. Indonesia 1999; 8:84-9.
6. Robbins SL, Kumar V. *Buku ajar patologi 2*, ed 4. Jakarta: EGC, 1995.
7. Kartika LB. *Wanita Indonesia paling sering terkena kanker payudara*. 2005. <http://www.kompas.com/kesehatan/news/0503/29/084357.htm>.
8. *Women with early breast cancer now have better chances of cure with 'Arimidex'* . July 2005. From [http://www.mer-c.org/me/ina/ikes/ikes\\_0304\\_kankerpayudara.htm](http://www.mer-c.org/me/ina/ikes/ikes_0304_kankerpayudara.htm) .
9. Marieb EN. *Human anatomy and physiology*, 5<sup>th</sup> ed. San Francisco: Benjamin Cummings, 2001: 1093-1094.
10. Wiryanto BTW. *Keajaiban buah merah: kesaksian dari mereka yang tersembuhkan*. Jakarta: PT Agromedia Pustaka, 2005.
11. Yahya M, Wiryanto BTW. *Khasiat dan manfaat buah merah*. Jakarta: PT AgroMedia Pustaka, 2005.
12. Redaksi Trubus. *Panduan praktis buah merah bukti empiris dan ilmiah*. Jakarta: Penebar Swadaya, 2005.
13. Pujasari H. *Efek pemberian minyak buah merah (Pandanus conoideus lam) terhadap pertumbuhan in vivo tumor kelenjar susu mencit C3H: tinjauan khusus aktivitas proliferasi dan apoptosis* (tesis). Jakarta : Universitas Indonesia, 2006.
14. Herberman RB, Bellanti JA. Mekanisme Pertahanan Imun Pada Imunitas Tumor. Soeripto N, editor. Dalam buku: *Imunologi III*. Jogjakarta: Gadjah Mada University Press, 1993: 356-373.
15. Roitt I, Brostoff J, Male D. *Imunology*, 6<sup>th</sup> ed. London: Mosby-year Book Europe Ltd, 2001.
16. Constatinides P. *General pathobiology*. Conecticut: Apleton & Lange, 1994: 276.
17. Abbas A, Lichtman AH, Pober JS. Immunity to Tumors. In : *Cellular and molecular immunology*, 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: WB saunders Co, 2005: 391-410.
18. World Health Organization Regional Office for the Western Pasific. *Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicine*. Manila: The Organization, 1993: 35.
19. Sarjadi. *Karsinoma epidermoid serviks uteri ( beberapa aspek epidemiologi serta peran histopatologi dan petanda tumor dalam penentuan prognosis )* (disertasi). Semarang: Universitas Diponegoro, 1985.



20. Baratawidjaja KG. *Imunologi dasar*, ed 7. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2006: 360-362.
21. Duryatmo S. *Fakta terbaru buah merah*. Trubus 2006 Desember. XXXVII;101 (kol.1).
22. Mun'im A, Andrajati R, Susilowati H. *Uji hambatan tumorigenesis sari buah merah (Pandanus conoideus lam) terhadap tikus putih betina yang diinduksi 7,12 dimetilbenz(a)antrasen (DMBA)*. Majalah Ilmu Kefarmasian 2006; 3: 153-61.

## **LAMPIRAN 1**

## **METODE INOKULASI SEL ADENOKARSINOMA MAMMAE PADA MENCIT *C3H***

### **Alat dan Bahan**

- mencit *C3H* (donor dan resipien)
- spuit insulin + jarum ukuran 18
- gunting bedah 10 cm
- gunting bengkok 10 cm
- pinset anatomis dan *chirurgis*
- botol jaringan
- sterofoam atau papan lilin
- cawan arloji
- cawan petri
- buffer formalin 10%
- es batu
- baskom
- alkohol 70%
- kapas
- hand scun
- ringer laktat / NaCl 0,9%

### **Cara Inokulasi**

- a. Siapkan mencit donor, diterminasi lalu diambil jaringan tumornya.
- b. Bersihkan jaringan tumor tersebut dalam cawan petri yang sudah diisi dengan NaCl 0,9% dari jaringan ikat, pembuluh darah dan jaringan lain yang melekat.
- c. Buat bubur tumor di cawan arloji yang diletakkan di atas baskom es dengan menggunakan gunting bengkok sampai lembut (bubur tumor bisa masuk ke dalam jarum spuit).
- d. Encerkan bubur tumor dengan NaCl 0,9% (bubur tumor : NaCl 0,9% = 1:1), lalu campur rata kemudian masukkan ke dalam spuit insulin sampai batas 0,2 ml dan suntikkan subcutan ke mencit *C3H* resipien.

## **LAMPIRAN 2**

## **METODE BAKU PEMBUATAN SEDIAAN PENELITIAN UNTUK PEMERIKSAAN HISTOPATOLOGI RUTIN**

### **A. Fiksasi**

1. Potongan jaringan dimasukkan dalam larutan formalin buffer (larutan formalin 10% dalam buffer Natrium asetat sampai mencapai pH 7,0) selama 18-24 jam.
2. Kemudian dilakukan pemotongan jaringan menjadi 2 potongan sama besar.
3. Semua potongan dimasukkan dalam larutan aquades selama 1 jam untuk proses penghilangan larutan fiksasi.

### **B. Dehidrasi**

1. Potongan jaringan dimasukkan dalam alkohol konsentrasi bertingkat hingga jaringan menjadi lebih jernih dan transparan.
2. Kemudian jaringan dimasukkan dalam larutan alkohol-xylol selama 1 jam.
3. Kemudian jaringan dimasukkan dalam larutan xylol murni selama 2x2 jam.

### **C. Impregnasi**

Jaringan dimasukkan dalam parafin cair selama 2x2 jam.

### **D. *Embedding* (pengeraman)**

1. Jaringan ditanam dalam parafin padat yang mempunyai titik lebur 56-58 °C, ditunggu sampai parafin padat.
2. Jaringan di dalam parafin dipotong setebal 4 mikron dengan mikrotom.
3. Potongan jaringan ditempelkan pada kaca objek yang sebelumnya telah diolesi polilisin sebagai perekat.
4. Jaringan pada kaca objek dipanaskan dalam inkubator suhu 56-58 °C sampai parafin mencair.

### **E. Pewarnaan jaringan dengan H&E**

Secara berurutan jaringan pada kaca objek dimasukkan dalam :

- |                           |           |
|---------------------------|-----------|
| 1. xylol I                | 5 menit   |
| 2. xylol II               | 5 menit   |
| 3. alkohol absolut        | 3x2 menit |
| 4. air mengalir           | 2 menit   |
| 5. HE Lillie-Mayer        | 5 menit   |
| 6. air mengalir           | 2 menit   |
| 7. alkohol asam 0,4%      | 3 celup   |
| 8. air mengalir           | 2 menit   |
| 9. lithium carbonat jenuh | 3 celup   |
| 10. air mengalir          | 2 menit   |
| 11. alkohol               | 3x2 menit |
| 12. xylol                 | 3x5 menit |

Kemudian ditutup dengan kaca penutup, maka jadilah preparat.

### **LAMPIRAN 3**

**HASIL PEMBACAAN PREPARAT  
SKOR JUMLAH SEBUKAN SEL MONONUKLEAR  
DI SEKITAR JARINGAN ADENOKARSINOMA MAMMAE MENCIT  
C3H**

Klpk Perlakuan	Preparat	Sebukan sel mononuklear					
		LP 1	LP 2	LP 3	LP 4	LP 5	Rata2
Kontrol (K)	1	2	1	0	1	1	1
	2	3	0	0	1	1	1
	3	1	0	3	0	2	1,2
	4	0	0	2	0	1	0,6
	5	0	1	0	0	1	0,4
P1	1	2	2	1	2	1	1,6
	2	3	2	3	3	3	2,8
	3	2	3	3	2	3	2,6
	4	3	3	3	2	3	2,8
	5	3	2	3	2	3	2,6
P2	1	3	2	3	3	3	2,8
	2	3	2	3	2	2	2,4
	3	2	3	2	3	2	2,4
	4	2	2	2	2	3	2,2
	5	2	3	2	2	2	2,2

Keterangan pembacaan :

0 = 0-5 sel MN
1 = sedikit ( <25% sel dari seluruh lapang pandang )
2 = sedang ( 25-50% sel dari seluruh lapang pandang )
3 = banyak ( >50% sel dari seluruh lapang pandang )

**LAMPIRAN 4**

## HASIL PENGOLAHAN DATA DENGAN SPSS 15.0

### Explore Kelompok

**Case Processing Summary**

Sebutan	Kelompok	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
	K	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	P1	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	P2	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%

**Descriptives**

Sebutan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K	5	840	3286	1470	432	1248	4	12
P1	5	2480	5020	2245	1857	3103	16	28
P2	5	2400	2449	1095	2096	2704	22	28
Total	15	1907	8548	2207	1433	2380	4	28

**Tests of Normality**

		Tests of Normality <sup>a</sup>					
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Sebutan	K	.287	5	.200 <sup>*</sup>	.014	5	.100
	P1	.304	5	.011	.710	5	.012
	P2	.300	5	.161	.833	5	.146

\* This is a lower bound of the true significance

a. Lilliefors Significance Correction

## NPar Tests

### Kruskal-Wallis Test

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank
Sebukan	K	5	3.00
	P1	5	11.40
	P2	5	9.60
	Total	15	

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	Sebukan
Chi-Square	9.922
df	2
Asymp. Sig.	.007

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

## NPar Tests

### Mann-Whitney Test

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Sebukan	K	5	3.00	15.00
	P1	5	8.00	40.00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Sebukan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.635
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

## NPar Tests

### Mann-Whitney Test

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Sebukan	K	5	3.00	15.00
	P2	5	8.00	40.00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Sebukan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.635
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

## NPar Tests

### Mann-Whitney Test

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Sebukan	P1	5	6.40	32.00
	P2	5	4.60	23.00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

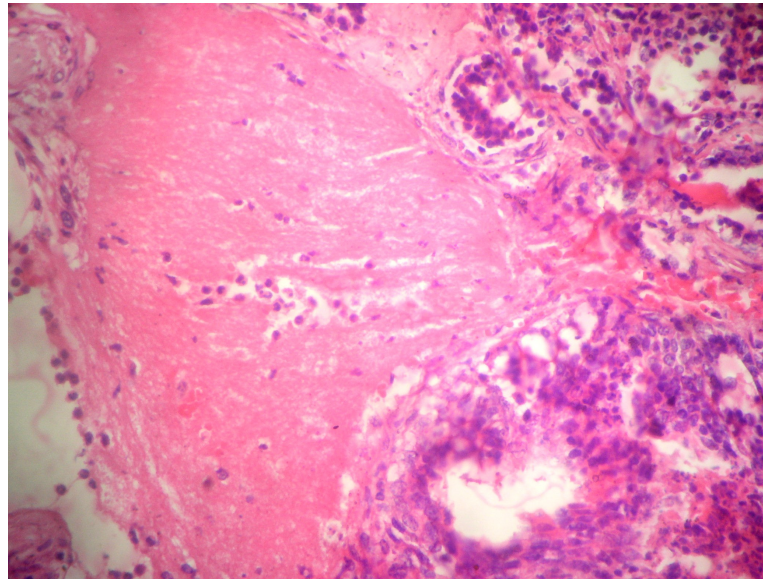
	Sebukan
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	23.000
Z	-.961
Asymp. Sig. (2-tailed)	.337
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.421 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

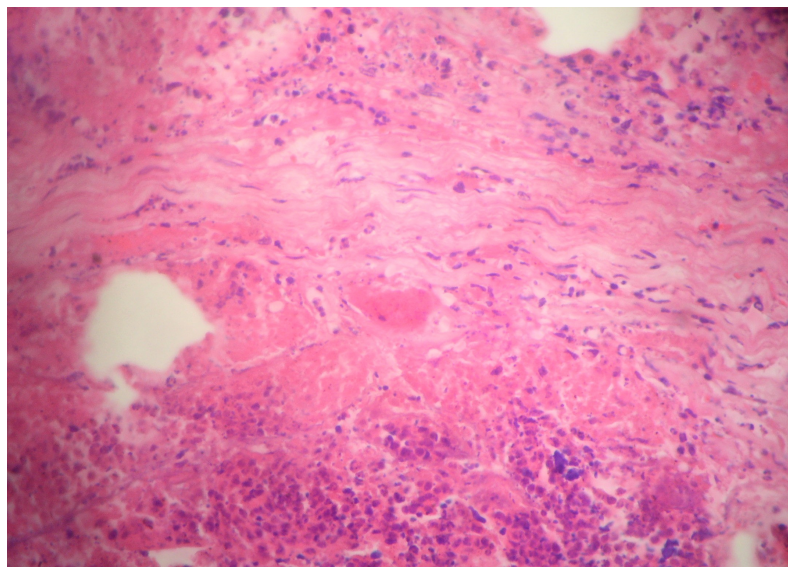
b. Grouping Variable: Kelompok

## LAMPIRAN 5

### FOTO SEBUKAN SEL MONONUKLEAR DI SEKITAR JARINGAN ADENOKARSINOMA MAMMAE MENCIT *C3H*

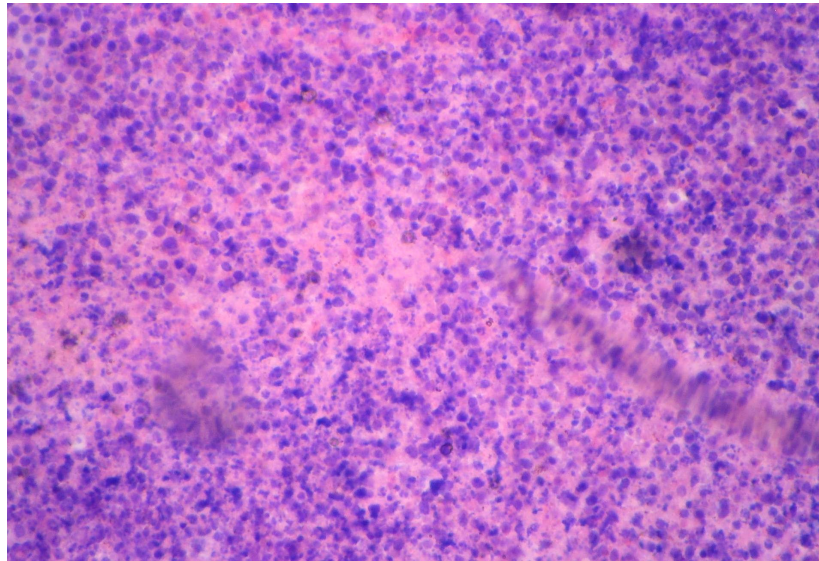


**Gambar 2.** Skor 1 sebulan sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mammae mencit *C3H*



**Gambar 3.** Skor 2 sebulan sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mammae mencit *C3H*

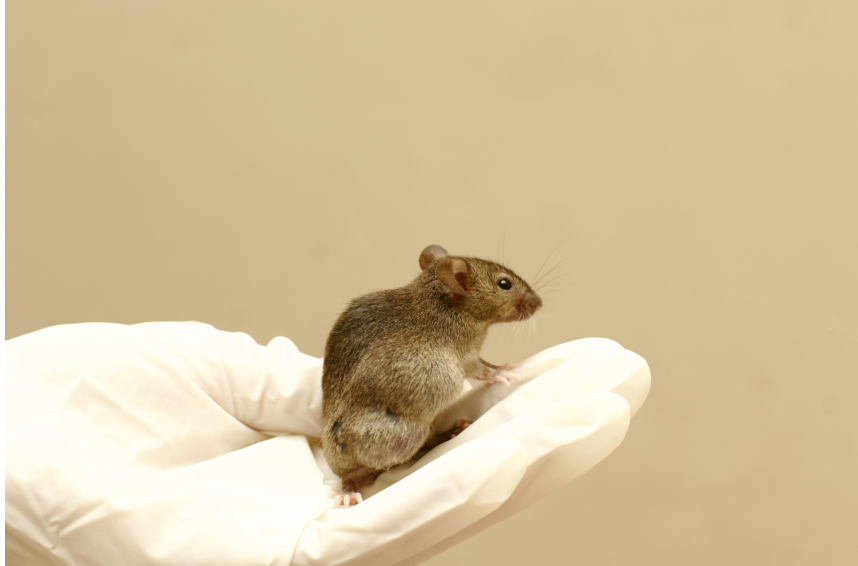




**Gambar 4.** Skor 3 sebulan sel mononuklear di sekitar jaringan adenokarsinoma mammae mencit *C3H*

## LAMPIRAN 6

### FOTO MENCIT *C3H*



**Gambar 5.** Mencit *C3H* donor



**Gambar 6.** Mencit *C3H* dengan kanker 2 minggu